

**Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun
Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap
Streptococcus mutans dan *Escherichia coli*****(Phytochemical Screening and Antibacterial Activity Test of Binahong Leaf Ethanol
Extract (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Against *Streptococcus mutans* and
Escherichia coli)****Mardhita Nilamsari Achmad¹⁾, Angelina Stevany Regina Masengi^{2)*}, Jimmy Posangi²⁾,
Fatimawali²⁾, Christi Diana Mambo²⁾**¹⁾Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran UNSRAT²⁾Bagian Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran UNSRAT Manado*Email korespondensi: asrmasengi@unsrat.ac.id**ABSTRAK**

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) telah dimanfaatkan sebagai bahan alami dalam pengobatan. Tanaman ini memiliki kandungan senyawa aktif seperti flavonoid yang dapat bertindak sebagai antibiotik dengan cara mengganggu fungsi mikroorganisme seperti bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kandungan senyawa aktif dalam ekstrak etanol daun binahong terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli*. Jenis penelitian yang digunakan ialah eksperimental laboratorium. Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak etanol daun binahong mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, alkaloid, polifenol, saponin, dan steroid. Hasil pengukuran zona hambat terhadap *streptococcus mutans* dengan metode cakram menggunakan konsentrasi 20%, 40%, dan 60% diperoleh nilai rata-rata sebesar 9,38 mm, 9,90 mm, dan 11,20 mm, sedangkan pada *Escherichia coli* diperoleh nilai rata-rata sebesar 8,53 mm, 9,12 mm, dan 10,23 mm. Hasil pengukuran zona hambat terhadap *streptococcus mutans* dengan metode sumuran menggunakan konsentrasi 20%, 40%, dan 60% diperoleh nilai rata-rata sebesar 10,35 mm, 11,28 mm, dan 12,85 mm, sedangkan pada *Escherichia coli* diperoleh nilai rata-rata sebesar 9,93 mm, 10,25 mm, 11,50 mm. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun binahong memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli*.

Kata Kunci: Antibakteri; Daun Binahong; Cakram; Sumuran

ABSTRACT

The binahong plant (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) has been used as a natural ingredient in medicine. This plant contains active compounds such as flavonoids which can act as antibiotics by interfering with the function of microorganisms such as bacteria. This study aims to test the content of active compounds in ethanol extract of binahong leaves against the growth inhibition zone of *Streptococcus mutans* and *Escherichia coli* bacteria. The type of research used is laboratory experimental. Phytochemical screening results show that ethanol extract of binahong leaves contains active compounds such as flavonoids, tannins, alkaloids, polyphenols, saponins, and steroids. The results of measuring the inhibition zone against *Streptococcus mutans* with the disc method using concentrations of 20%, 40%, and 60% obtained average values of 9,38 mm, 9,90 mm, and 11,20 mm, while in *Escherichia coli* obtained average values of 8,53 mm, 9,12 mm, and 10,23 mm. The results of measuring the inhibition zone against *Streptococcus mutans* with the well method using concentrations of 20%, 40%, and 60% obtained an average value of 10,35 mm, 11,28 mm, and 12,85 mm, while in *Escherichia coli* obtained an average value of 9,93 mm, 10,25 mm, 11,50 mm. Based on these results, it can be concluded that ethanol extract of binahong leaves has the potential to inhibit the growth of *Streptococcus mutans* and *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: Antibacterial; Binahong Leaves; Disc; Well

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi ialah penyakit yang disebabkan oleh masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh sehingga membahayakan dan menyebabkan kerusakan yang

menimbulkan berbagai gejala klinis. Salah satu contoh mikroorganisme patogen penyebab penyakit pada manusia ialah bakteri (Novard *et al.*, 2019). *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli* merupakan bakteri yang sering menginfeksi manusia. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri penyebab karies gigi dan *Escherichia coli* juga dapat menginfeksi manusia dalam bentuk penyakit seperti diare (Tivani & Perwitasari *et al.*, 2021). Angka kejadian karies gigi di Indonesia tahun 2018 telah mencapai 88,8% dari jumlah penduduk dan angka kejadian diare tahun 2018 pada bayi sebesar 10,6%, balita sebesar 12,3%, serta di semua kelompok umur sebesar 8% (Kementerian Kesehatan RI, 2022; Theresia *et al.*, 2023).

Tingginya angka kejadian penyakit infeksi akan menyebabkan penggunaan antibiotik sebagai obat yang sering digunakan dalam perawatan penyakit infeksi juga meningkat. Hal ini dapat meningkatkan frekuensi penggunaan antibiotik yang irasional dan pada akhirnya dapat memberikan berbagai efek negatif seperti resistensi antibiotik (Melarosa *et al.*, 2019; Gunawan *et al.*, 2021). Meningkatnya resistensi antibiotik mendorong untuk membuat alternatif baru atau melakukan upaya penemuan obat baru dengan menggunakan bahan alam sebagai pengobatan terhadap penyakit infeksi oleh bakteri (Zahki, 2023).

Indonesia memiliki kekayaan dan keanekaragaman hayati yang sangat melimpah. Terdapat lebih dari 30.000 jenis tanaman herbal yang berada di Indonesia dan 1.200 jenis diantaranya telah digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai bahan baku alami dalam pengobatan (Meiriyama *et al.*, 2022). Salah satu tanaman yang telah dimanfaatkan sebagai bahan alami dalam pengobatan ialah tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) (Aruperes *et al.*, 2021). Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) memiliki akar, umbi, batang, bunga, dan daun yang mengandung senyawa aktif (Tjahjani & Lestari, 2022). Kandungan senyawa aktif dalam tanaman binahong, seperti flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, polifenol, triterpenoid, dan steroid (Hanifah & Anjani, 2022; Indarto *et al.*, 2019; Isfanda & Rizalullah, 2021; Tjahjani *et al.*, 2022). Senyawa aktif flavonoid dapat bertindak sebagai antibiotik dengan cara mengganggu fungsi mikroorganisme seperti bakteri. Oleh karena itu, tanaman binahong dapat digunakan dalam mencegah pertumbuhan bakteri (Aruperes *et al.*, 2021).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Suhada *et al.* (2022) mengenai efektivitas ekstrak daun binahong terhadap *Salmonella typhi* secara in vitro dengan metode sumuran (Suhada *et al.*, 2022). Penelitian lainnya dilakukan oleh Hita *et al.* (2020) mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode cakram (Hita *et al.*, 2020).

Berdasarkan uraian yang telah disampaikan, peneliti tertarik melakukan penelitian eksperimental di laboratorium untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli* menggunakan metode cakram dan sumuran.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Juli-Desember 2023 di Laboratorium FMIPA Universitas Manado dan Laboratorium Forensik Polda Sulawesi Utara.

Sampel yang digunakan ialah daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang berasal dari Kelurahan Tongkaina, Kecamatan Bunaken, Kota Manado, Sulawesi Utara. Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dipetik pada pagi hari, menggunakan daun yang tidak terlalu tua ataupun terlalu muda, dan berwarna hijau segar.

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain gunting, timbangan analitik, saringan 0,3 mm, kertas saring, corong buchner, blender, *rotary evaporator*, oven, pengaduk (sendok), toples kaca, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, kertas label, kertas karton, spidol, pipa bentuk L, mortar, pinset, kertas cakram, pencadang, cawan petri, *autoklaf*, *erlenmeyer*, jangka sorong, sarung tangan, masker, camera, 833 gram daun binahong segar, etanol 96%, *aluminium foil*, ekstrak kering daun binahong, HCl, serbuk Mg, FeCl₃ 1%, amoniak, kloroform, Mayer, Dragendorff, Wagner, aquades, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, *Nutrient Agar* (NA), CMC 1%, dan *ciprofloxacin*.

Prosedur Penelitian

Persiapan Sampel

Sebanyak 833 gram daun binahong segar yang telah diperoleh dicuci hingga benar-benar bersih, ditiriskan dan diangin-anginkan selama 4 hari. Kemudian daun binahong dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 4 hari. Sampel yang telah kering dihaluskan menggunakan blender dan disaring menggunakan saringan 0,3 mm.

Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 57,5 gram serbuk daun binahong dimasukkan ke dalam toples kaca kemudian ditambahkan dengan pelarut etanol 96%. Proses ekstraksi dengan metode maserasi dilakukan selama 3x24 jam dengan sesekali diaduk dan ditutup menggunakan *aluminium foil*. Setelah itu, larutan disaring untuk memperoleh filtrat 1 dan residu 1. Filtrat 1 disimpan pada wadah lainnya, sedangkan residu 1 dilakukan remaserasi dengan menambahkan kembali pelarut etanol 96%. Proses remaserasi dilakukan selama 2x24 jam sambil sesekali diaduk dan dilakukan penyaringan hingga memperoleh filtrat 2. Filtrat 1 dan 2 dihomogenkan dalam satu wadah dan dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental. Kemudian ekstrak kental yang diperoleh dipanaskan dengan oven pada suhu 50°C hingga menghasilkan ekstrak kering sebanyak 30,8 gram. Selanjutnya, ekstrak kering yang telah diperoleh ditimbang dan disimpan ke dalam wadah tertutup, serta disimpan di dalam kulkas dengan suhu 5°C sebelum digunakan untuk proses selanjutnya.

Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan dengan menambahkan 1 mL asam asetat glasial dan 1 mL asam sulfat pekat pada sejumlah sampel uji, kemudian dipanaskan. Sampel dikatakan bebas etanol jika setelah dipanaskan tidak tercium bau ester (buah-buahan) (Konay *et al.*, 2019).

Skrining Fitokimia

Larutan uji dibuat terlebih dahulu sebelum melakukan skrining fitokimia. Larutan uji dibuat dengan cara menambahkan 2 gram ekstrak ke dalam 20 mL etanol 96%.

1. Uji Flavonoid
Sebanyak 2 mL ekstrak etanol daun binahong disiapkan dalam tabung reaksi, kemudian dipanaskan selama 5 menit. Setelah itu, 0,2 gram serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat akan ditambahkan. Hasil positif akan menunjukkan warna kuning.
2. Uji Tanin
Sebanyak 2 mL ekstrak etanol daun binahong disiapkan dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 10 tetes FeCl_3 1%. Hasil positif akan menunjukkan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman.
3. Uji Alkaloid
Sebanyak 2 mL ekstrak etanol daun binahong disiapkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 mL amoniak, 5 mL kloroform, dan 3-5 tetes H_2SO_4 . Setelah itu, homogenkan dilakukan dengan cara dikocok selama beberapa saat hingga membentuk lapisan atas dan lapisan bawah. Lapisan atas dipindahkan ke dalam 3 tabung reaksi, di mana tabung pertama ditambahkan 3-5 tetes Mayer, tabung kedua ditambahkan 3-5 tetes Dragendorff, dan tabung ketiga ditambahkan 3-5 tetes Wagner. Hasil positif akan membentuk endapan berwarna putih untuk tabung pertama, endapan berwarna jingga untuk tabung kedua, dan endapan berwarna coklat untuk tabung ketiga.
4. Uji Polifenol
Sebanyak 2 mL ekstrak etanol daun binahong disiapkan dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 10 tetes FeCl_3 1%. Hasil positif akan menunjukkan warna hijau kehitaman.
5. Uji Saponin
2 mL ekstrak etanol daun binahong disiapkan dalam tabung reaksi, kemudian dipanaskan selama 5 menit. Setelah itu, 10 tetes aquades panas ditambahkan ke dalam tabung, dan sampel dikocok. Hasil positif akan ditunjukkan dengan terbentuknya busa setelah dikocok.
6. Uji Triterpenoid
2 mL ekstrak etanol daun binahong disiapkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 tetes asam asetat anhidrat dan 2 tetes asam sulfat pekat. Hasil positif akan menunjukkan warna ungu.
7. Uji Steroid
2 mL ekstrak etanol daun binahong disiapkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 tetes asam asetat anhidrat dan 2 tetes asam sulfat pekat. Hasil positif akan menunjukkan warna hijau.

Uji Aktivitas Antibakteri

Sterilisasi Alat dan Media

Peralatan gelas dan media disterilkan menggunakan *autoklaf* pada suhu 121°C selama 15 menit, dan pinset dibakar dengan pembakaran di atas api langsung (Alamri et al., 2020).

Pembuatan Media Bakteri

1. Pembuatan Agar Miring

Media agar miring dibuat untuk inokulasi bakteri. Pembuatan media agar miring dilakukan dengan menyiapkan 2,8 gram *Nutrient Agar* (NA) yang diencerkan dengan 100 mL aquades menggunakan *erlenmeyer*. Media yang telah disiapkan disterilkan menggunakan *autoklaf* dan didinginkan. Setelah itu, 5 mL media disimpan ke dalam 4 tabung reaksi steril dan ditutup menggunakan *aluminium foil*. Media kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama ± 30 menit sampai memadat pada kemiringan (Pehino *et al.*, 2021).

2. Pembuatan Media Dasar

Pembuatan media agar miring dilakukan dengan menyiapkan 5,6 gram *Nutrient Agar* (NA) yang diencerkan dengan 200 mL aquades menggunakan *erlenmeyer*. Media yang telah disiapkan disterilkan menggunakan *autoklaf* dan didinginkan pada suhu ruangan (Pehino *et al.*, 2021).

Pembiakan Bakteri

Bakteri uji diambil menggunakan ose steril dan digoreskan pada media agar miring, kemudian diinkubasi menggunakan inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Pehino *et al.*, 2021).

Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan

Standar kekeruhan larutan dibuat dengan tujuan sebagai standar kekeruhan dari suspensi bakteri uji. Standar kekeruhan larutan dibuat dengan mencampurkan 9,95 mL H₂SO₄ 1% dan 0,05 mL BaCl₂ 1%, kemudian dikocok sampai keruh (Pehino *et al.*, 2021).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Suspensi bakteri dibuat dengan menyiapkan 10 mL NaCl 0,9% di dalam tabung, kemudian bakteri uji diambil menggunakan ose steril dan disuspensikan ke dalam tabung sampai mencapai kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan yang telah dibuat (Gerung *et al.*, 2021).

Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Larutan kontrol negatif dibuat menggunakan CMC 1% yang dibuat dari 1 gram CMC dilarutkan dengan 100 mL aquades steril, kemudian dimasukkan ke dalam wadah dan dikocok hingga larutan homogen (Pehino *et al.*, 2021).

Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Larutan kontrol positif dibuat menggunakan sediaan obat *ciprofloxacin* 500 mg, dengan menimbang 10 tablet yang telah digerus untuk mengetahui berat per tablet (Nurhamidin *et al.*, 2021). Dalam pembuatan larutan kontrol positif diperlukan 10 mL CMC 1% dan 10 mg *ciprofloxacin*. Penimbangan *ciprofloxacin* dihitung:

$$\frac{10 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 733,3 \text{ mg (berat per tablet)} = 14,66 \text{ mg}$$

Sebanyak 14,66 mg sediaan obat *ciprofloxacin* ditambahkan dengan 10 mL CMC 1% untuk pengenceran 1. Pengenceran 2 dibuat dengan cara pengenceran 1 dipipet sebanyak 1 mL lalu ditambahkan CMC 1% hingga 10 mL.

Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Larutan uji ekstrak dibuat dalam volume 5 mL menggunakan larutan CMC 1% dan ekstrak kering daun binahong dengan konsentrasi 20%, 40%, dan 60%.

Uji Aktivitas Antibakteri Metode Cakram

Media *Nutrient Agar* (NA) yang telah dibuat dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 15 mL dan dibiarkan memadat. Kemudian, suspensi bakteri yang telah disiapkan disebarkan menggunakan pipa bentuk L agar suspensi meresap ke dalam media. Setelah itu, kertas cakram yang telah direndam dalam larutan kontrol negatif, larutan kontrol positif, larutan uji ekstrak 20%, 40%, dan 60% dapat diletakkan di atas media. Selanjutnya, cawan petri yang telah terisi media dan kertas cakram dapat diinkubasi ke dalam inkubator dengan suhu 37⁰ C selama 24 jam (Puasa et al., 2019).

Uji Aktivitas Antibakteri Metode Sumuran

Pada metode sumuran, media *Nutrient Agar* (NA) dibuat dalam 2 lapisan. Lapisan pertama dibuat dengan menuangkan 15 mL NA ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat. Setelah media memadat, 5 pencadang ditanam di lapisan pertama dan diatur jaraknya. Kemudian, suspensi bakteri yang telah disiapkan dicampurkan dalam media NA (Puasa et al., 2019).

Lapisan kedua dibuat dengan menuangkan 15 mL NA pada media yang telah diletakkan pencadang. Setelah lapisan kedua memadat, pencadang yang telah diletakkan sebelumnya diangkat secara aseptik menggunakan pinset dari masing-masing cawan petri, sehingga terbentuk sumur-sumur. Sumur-sumur yang terbentuk diisi dengan larutan kontrol negatif, larutan kontrol positif, larutan uji ekstrak 20%, 40%, dan 60%. Selanjutnya, cawan petri dapat diinkubasi ke dalam inkubator dengan suhu 37⁰ C selama 24 jam (Puasa et al., 2019).

Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan terhadap diameter zona hambat dilakukan setelah masa inkubasi selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk disekitar cakram dan sumuran diidentifikasi sebagai zona hambat dari aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun binahong. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm) pada setiap pengulangan. Diameter zona hambat diukur dari tepi ke tepi yang bersebrangan melewati pusat cakram dan sumuran. Setelah setiap pengulangan diameter zona hambat diukur, dilanjutkan dengan menghitung nilai rata-rata dari setiap kelompok uji (kontrol negatif, kontrol positif, dan ekstrak 20%, 40%, serta 60%) (Pehino et al., 2021; Alamri et al., 2020; Alouw et al., 2022).

Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji aktivitas antibakteri ialah pengukuran diameter zona hambat. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dan dirata-ratakan nilainya. Setelah, diameter zona hambat dirata-ratakan, zona hambat tersebut digolongkan sesuai dengan kelompok kategori menurut Davis dan Stout (1971).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Serbuk dan Pembuatan Ekstrak Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi karena metode tersebut sederhana dan sangat menguntungkan untuk mengisolasi senyawa bahan alam. Pada saat perendaman sampel menggunakan pelarut akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga senyawa aktif terlarut dalam pelarut, serta ekstraksi senyawa dapat terlarut seluruhnya atau sempurna karena dapat mengatur perendaman yang dilakukan. Selain itu, pengerjaan metode maserasi tidak dilakukan proses pemanasan sehingga mengurangi potensi penguraian senyawa aktif dalam sampel yang tidak tahan dengan suhu panas (Mujipradhana *et al.*, 2018).

Sebanyak 57,5 gram serbuk daun binahong direndam menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 287,5 mL selama 3x24 jam, kemudian dilanjutkan dengan remaserasi selama 2x24 jam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 402,5 mL, sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang telah diperoleh dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 5x24 jam hingga diperoleh ekstrak kering sebanyak 30,8 gram.

Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk menghindari pengaruh pelarut etanol dalam ekstrak daun binahong yang dikhawatirkan akan memengaruhi aktivitas antibakteri karena etanol bersifat desinfektan. Hasil yang diperoleh dari uji bebas etanol yang telah dilakukan ialah sampel bebas dari pelarut etanol karena tidak tercium bau ester (buah-buahan) (Konay *et al.*, 2019). Selain itu, hasil ekstrak etanol daun binahong yang diperoleh ialah dalam bentuk ekstrak kering. Menurut Suhada *et al.* (2022), ekstrak yang berbentuk padat atau kering merupakan ekstrak yang telah mengalami proses penguapan dan tidak mengandung pelarut (Suhada *et al.*, 2022).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif dalam ekstrak etanol daun binahong yang terdiri dari uji flavonoid, tanin, alkaloid, polifenol, saponin, triterpenoid, dan steroid. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun binahong dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli* dilakukan dengan metode cakram dan metode sumuran. Hasil uji aktivitas antibakteri yang dilakukan dengan metode cakram dapat dilihat dalam **Tabel 2** dan **Tabel 3**, sedangkan hasil uji aktivitas yang dilakukan dengan metode sumuran dapat dilihat dalam **Tabel 4** dan **Tabel 5**.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun binahong

Senyawa Aktif	Pereaksi	Hasil Uji	Keterangan
Flavonoid	Mg + HCl Pekat	Positif	Terjadi perubahan warna kuning
Tanin	FeCl ₃ 1%	Positif	Terjadi perubahan warna hijau kehitaman
Alkaloid	Mayer	Positif	Terdapat endapan berwarna putih
	Dragendorff	Positif	Terdapat endapan berwarna jingga
	Wagner	Negatif	Tidak terdapat endapan
Polifenol	FeCl ₃ 1%	Positif	Terjadi perubahan warna hijau kehitaman
Saponin	Aquades	Positif	Terdapat busa
Triterpenoid	Asam asetat anhidrat + asam sulfat pekat	Negatif	Tidak terjadi perubahan warna
Steroid	Asam asetat anhidrat + asam sulfat pekat	Positif	Terjadi perubahan warna hijau

Tabel 2. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak etanol daun binahong terhadap pertumbuhan *streptococcus mutans* dengan metode cakram

Kelompok	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm)
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
K-	0,00	0,00	0,00	0,00
20%	9,25	8,80	10,10	9,38
40%	10,00	9,45	10,25	9,90
60%	11,70	10,90	11,00	11,20
K+	27,85	28,75	30,50	29,03

Tabel 3. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak etanol daun binahong terhadap pertumbuhan *escherichia coli* dengan metode cakram

Kelompok	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm)
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
K-	0,00	0,00	0,00	0,00
20%	8,25	8,60	8,75	8,53
40%	9,00	9,25	9,10	9,12
60%	10,25	10,00	10,45	10,23
K+	29,85	27,20	15,25	24,10

Tabel 4. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak etanol daun binahong terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan metode sumuran

Kelompok	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm)
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
K-	0,00	0,00	0,00	0,00
20%	10,35	10,55	10,15	10,35
40%	11,25	11,75	10,85	11,28
60%	12,60	13,10	12,85	12,85
K+	31,10	32,15	32,50	31,92

Tabel 5. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak etanol daun binahong terhadap pertumbuhan *escherichia coli* dengan metode sumuran

Kelompok	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm)
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
K-	0,00	0,00	0,00	0,00
20%	10,00	9,65	10,15	9,93
40%	10,00	10,25	10,50	10,25
60%	11,50	11,00	12,00	11,50
K+	30,95	31,25	33,20	31,80

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan menunjukkan adanya diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram dan sumuran. Diameter zona hambat yang diperoleh digolongkan berdasarkan 4 kelompok kategori menurut Davis dan Stout (1971). Kelompok pertama yang memiliki diameter zona hambat <5 mm termasuk dalam kategori lemah, kelompok kedua yang memiliki diameter zona hambat 5 sampai 10 mm termasuk dalam kategori sedang, kelompok ketiga diameter zona hambat 10 sampai 20 mm termasuk dalam kategori kuat, dan kelompok keempat yang memiliki diameter zona hambat >20 mm termasuk dalam kategori sangat kuat (Alamri *et al.*, 2020).

Pada kelompok kontrol negatif menggunakan larutan CMC 1% tidak menunjukkan adanya diameter zona hambat di sekitar area kertas cakram dan sumuran yang ditumbuhi bakteri. Artinya, CMC 1% tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli*. Hal ini disebabkan karena fungsi dari CMC 1% sebagai kontrol negatif ialah untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh pelarut CMC 1% terhadap pertumbuhan bakteri. Dapat disimpulkan bahwa yang memengaruhi aktivitas antibakteri ialah zat uji bukan pelarut CMC 1% (Pehino *et al.*, 2021).

Pada kelompok kontrol positif menunjukkan diameter zona hambat pada kedua bakteri *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli*. Rata-rata diameter zona hambat yang diperoleh dari kontrol positif sebesar 29,03 mm (Tabel 2), 24,10 mm (Tabel 3), 31,92 mm (Tabel 4), dan 31,80 mm (Tabel 5) yang termasuk dalam kategori sangat kuat. Kontrol positif yang digunakan ialah antibiotik *ciprofloxacin* karena

dapat bekerja dalam spektrum luas. *Ciprofloxacin* merupakan antibiotik golongan fluoroquinolon yang dapat masuk ke dalam sel dengan cara difusi pasif melalui kanal protein dengan menghambat sintesis asam nukleat dan menghambat replikasi DNA bakteri, serta mengganggu kerja DNA *gyrase* selama pertumbuhan dan reproduksi bakteri (Pehino et al., 2021).

Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode cakram pada bakteri *Streptococcus mutans* dengan konsentrasi ekstrak 20%, 40%, dan 60% menunjukkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 9,38 mm, 9,90 mm, dan 11,20 mm (Tabel 2). Berdasarkan hasil diameter zona hambat yang diperoleh konsentrasi ekstrak 20% dan 40% termasuk dalam kategori sedang, sedangkan konsentrasi ekstrak 60% termasuk dalam kategori kuat. Kemudian, uji aktivitas antibakteri metode cakram pada bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi ekstrak 20%, 40%, dan 60% menunjukkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 8,53 mm, 9,12 mm, dan 10,23 mm (Tabel 3). Berdasarkan hasil diameter zona hambat yang diperoleh konsentrasi ekstrak 20% dan 40% termasuk dalam kategori sedang, sedangkan konsentrasi ekstrak 60% termasuk dalam kategori kuat.

Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode sumuran pada bakteri *Streptococcus mutans* dengan konsentrasi ekstrak 20%, 40%, dan 60% menunjukkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 10,35 mm, 11,28 mm, dan 12,85 mm (Tabel 4). Berdasarkan hasil diameter zona hambat yang diperoleh ketiga konsentrasi ekstrak termasuk dalam kategori kuat. Kemudian, uji aktivitas antibakteri metode sumuran pada bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi ekstrak 20%, 40%, dan 60% menunjukkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 9,93 mm, 10,25 mm, 11,50 mm (Tabel 5). Berdasarkan hasil diameter zona hambat yang diperoleh konsentrasi ekstrak 20% termasuk dalam kategori sedang, sedangkan konsentrasi ekstrak 40% dan 60% termasuk dalam kategori kuat.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri dengan larutan uji ekstrak konsentrasi 20%, 40%, dan 60% diperoleh hasil diameter zona bening atau zona hambat yang menggambarkan terdapatnya aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli* (Alamri et al., 2020). Pada Tabel 2, Tabel 3, Tabel 4, dan Tabel 5 dapat dilihat bahwa rata-rata diameter zona hambat lebih besar pada bakteri *Streptococcus mutans* dibandingkan *Escherichia coli*. Hal ini disebabkan karena bakteri *Streptococcus mutans* dan bakteri *Escherichia coli* berasal dari golongan bakteri yang berbeda yaitu bakteri *Streptococcus mutans* sebagai gram positif dan *Escherichia coli* sebagai gram negatif. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana dibandingkan bakteri gram negatif. Perbedaan respon kedua golongan bakteri terhadap ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) disebabkan adanya perbedaan kepekaan antara bakteri gram negatif dan gram positif (Pehino et al., 2021; Alouw et al., 2022).

Bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang kompleks. Membran luar bakteri gram negatif mengandung lipoprotein, fosfolipid, dan lipopolisakarida yang sangat banyak sehingga dapat melindungi lisisnya peptidoglikan dan melindungi sel dari pengaruh lingkungan luar, seperti lingkungan hipertonis. Kandungan lipid yang tinggi (11–22%) pada dinding sel bakteri juga berdampak pada berkurangnya atau menurunnya permeabilitas dinding sel sehingga zat antibakteri lebih sulit melakukan penetrasi untuk masuk ke dalam sel, sedangkan bakteri gram positif memiliki struktur 90% dinding selnya tersusun atas lapisan peptidoglikan dan sisanya tersusun atas asam teikoat. Hal ini diduga mengakibatkan dinding sel

bakteri gram positif mudah dirusak oleh senyawa antibakteri dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis (Pehino *et al.*, 2021; Alouw *et al.*, 2022)).

Selain itu, dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi juga rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada Tabel 2, Tabel 3, Tabel 4, dan Tabel 5. Hal ini disebabkan karena semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin banyak senyawa aktif antibakteri yang terkandung di dalam ekstrak (Pehino *et al.*, 2021).

Senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak, seperti flavonoid dapat berperan sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat dengan menghambat pembentukan DNA dan RNA. Hal ini mengakibatkan penumpukan basa asam nukleat dan merusak permeabilitas dinding sel bakteri, lisosom, dan mikrosom. Saponin sebagai antibakteri bekerja dengan mengganggu dan menurunkan kestabilan sel dengan cara berdifusi melalui membran luar dan dinding sel bakteri, serta mengikat membran sitoplasma sampai sitoplasma bocor keluar sel dan menyebabkan kematian sel bakteri. Selain itu, saponin dapat memecah atau mengganggu tegangan permukaan dinding sel. Terganggunya dinding sel menyebabkan zat antibakteri dapat dengan mudah masuk ke dalam sel sehingga mengganggu metabolisme dan bakteri akan mati (Alouw *et al.*, 2022). Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri karena mengandung gugus basa (nitrogen). Kandungan gugus basa menyebabkan alkaloid dapat bereaksi dengan senyawa asam yang berada dalam bakteri seperti DNA yang merupakan komponen utama inti sel. Terganggunya DNA menyebabkan sintesis protein dan asam nukleat dalam sel menjadi terganggu sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau mengalami kematian (Fauzi, 2023).

Tanin dapat berperan sebagai antibakteri dengan cara menginaktifkan adhesi sel bakteri, menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Selain itu, tanin dapat menyebabkan dinding sel bakteri menyusut atau mengerut sehingga mengganggu permeabilitas sel. Terganggunya permeabilitas sel dapat menghalangi sel melakukan aktivitas hidup dan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel (Alouw *et al.*, 2022). Polifenol berperan sebagai antibakteri dengan cara menjadi toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding sel, serta mengendapkan protein sel bakteri. Selain itu, polifenol dapat merusak sel bakteri, denaturasi protein, menginaktifkan enzim, dan menyebabkan kebocoran sel (Fauzi, 2023). Steroid dapat berperan sebagai antibakteri karena berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitasnya terhadap steroid yang mengakibatkan kebocoran pada liposom, berkurangnya integritas membran, dan perubahan morfologi membran sel sehingga membuat sel menjadi rapuh dan lisis (Sadiah *et al.*, 2022).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, alkaloid, polifenol, saponin, dan steroid. Selain itu, hasil uji aktivitas antibakteri menggunakan larutan uji ekstrak konsentrasi 60% pada metode cakram dan metode sumuran menghasilkan rata-rata diameter zona hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli* yang termasuk dalam kategori kuat. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol daun binahong memiliki

potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Alamri, F., Fatimawali., & Jayanto, I. (2020). Uji Daya Hambat Ekstrak Heksana Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae* Isolat Urin Pada Infeksi Saluran Kemih. *Pharmacon*, 9(1), 47–54.
- Alouw, G. E. C., Fatimawali., & Lebang, J. S. (2022). Antibacterial Activity Test Of Ethanol Extraction From Jamaican Cherry Leaves (*Muntingia calabura* L.) On *Staphylococcus aureus* And *Pseudomonas aeruginosa* Bacteria Using Well Diffusion Method. *Pharmacy Medical Journal*, 5(1), 36–44.
- Aruperes, G. Y., Pangemanan, H. C. D., & Mintjelungan, C. N. (2021). Daya Hambat Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* Steenis) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *E-Gigi*, 9(2), 250–255.
- Fauzi, A. Z. (2023). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Kapas (*Gossypium hirsutum* L.) Sebagai Anti Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Termometer: Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan dan Kedokteran*, 1(3), 43–51.
- Gerung, W. H. P., Fatimawali, & Antasionasti, I. (2021). Antibacterial Activity Test Of Belimbing Botol Leaf Extract (*Averrhoa bilimbi* L.) Against The Growth Of *Propionibacterium acne*, An Acne-Causing Bacteria. *Pharmacon*, 10(4), 1087–1093.
- Gunawan, S., Tjandra, O., & Halim, S. (2021). Edukasi Mengenai Penggunaan Antibiotik Yang Rasional Di Lingkungan SMK Negeri 1 Tambelang Bekasi. *Jurnal Bakti Masyarakat Indonesia*, 4(1), 156–164.
- Hanifah & Anjani, T. P (2022). Phytochemical Screening Of Binahong Leaves (*Anredera cordifolia*) From Semarang Regency Extracted Using Water Solvent. *Journal of Aquatropica Asia*, 7(2), 99–103.
- Hita, I. P. G. A. P., Arimbawa, P. E., & BP, D. W. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *MEDFARM: Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 9(2), 49–54.
- Indarto., Narulita, W., Anggoro, B. S., & Novitasari, A. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong Terhadap *Propionibacterium acnes*. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, 10(1), 67–78.
- Isfanda & Rizalullah. (2021). Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Andera cordifolia*) Terhadap Bakteri *Stahpylococcus aureus*. *Jurnal Sains Riset*, 11(2), 191–200.
- Kementerian Kesehatan RI. (2022). Laporan Kinerja 2022 Direktorat Pencegahan Dan Pengendalian Penyakit Menular Kementerian Kesehatan. Jakarta.
- Konay, S. M., Pakan, P. D., & Kareri, D. G. R. (2019). Uji Potensi Anti Bakteri Ekstrak Etanol 70% Buah Lontar (*Borassus flabellifer*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Cendana Medical Journal*, 7(2), 164–177.
- Meiriyama., Devella, S., & Adelfi, S. M. (2022). Klasifikasi Daun Herbal Berdasarkan Fitur Bentuk Dan Tekstur Menggunakan KNN. *JATISI (Jurnal Teknik Informatika dan Sistem Informasi)*, 9(3), 2573–2584.

- Melarosa, P. R., Ernawati, D. K., & Mahendra, A. N. (2019). Pola Penggunaan Antibiotika Pada Pasien Dewasa Dengan Demam Tifoid Di Rsup Sanglah Denpasar Tahun 2016-2017. *E-Jurnal Medika*, 8(1), 12–16.
- Mujiipradhana, V. N., Wewengkang, D.S., & Suryanto, E. (2018). Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak *Ascidian herdmania momus* Pada Mikroba Patogen Manusia. *Pharmacon*, 7(3), 338–347.
- Novard, M. F. A., Suharti, N., & Rasyid, R. (2019). Gambaran Bakteri Penyebab Infeksi Pada Anak Berdasarkan Jenis Spesimen dan Pola Resistensinya di Laboratorium RSUP Dr. M. Djamil Padang Tahun 2014-2016. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 8(2S), 26–32. <https://doi.org/10.25077/jka.v8i2s.955>
- Nurhamidin, A. P. R., Fatimawali, & Antasionasti, I. (2021). Antibacterial Activity Test Of N-Hexane Extract Of Langsung Fruit Seeds (*Lansium domesticum* Corr) Against *Staphylococcus aureus* And *Klebsiella pneumoniae* Bacteria. *Pharmacon*, 10(1), 748–755.
- Pehino, A., Fatimawali., & Suoth, E. J. (2021). Antibacterial Activity Test Of Duku Fruit Seeds (*Lansium domesticum*) Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Bacteries. *Pharmacon*, 10(2), 818–824.
- Puasa, N. S., Fatimawali., & Wiyono, W. I. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumonia* Isolat Urin Pada Penderita Infeksi Saluran Kemih. *Pharmacon*, 8(4), 982–990. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29379>
- Theresia, T. T., Goalbertus, & Nurifai, F. H. (2023). The Relationship Of Frequency Of Instant Food Consumption And Energy Drinks' Consumption With Prevalence Of Caries. *Jurnal Kesehatan Gigi*, 10(1), 5–9.
- Tivani, I., & Perwitasari, M. (2021). Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca*) Terhadap Bakteri (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutan* dan *Eschericia coli*). *Bhamada: Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan (E-Journal)*, 12(1), 33–38.
- Tjahjani, N. P., & Lestari, D. W. (2022). Potensi Ekstrak Etanol 70% Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.) Dan Ekstrak Etanol 96% Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Proteus Mirabilis*. *Jurnal Pranata Biomedika*, 1(1), 64–77.
- Sadiyah, H. H., Cahyadi, A. I., & Windria, S. (2022). Kajian Potensi Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) sebagai Antibakteri. *Jurnal Sain Veteriner*, 40(2), 128–138.
- Suhada, A., Hardani., Halid, M., Ratulangi, W. R., Susilawati, W. D., Hasanah, U., Putra, R. P. A., & Pauzan. (2022). Efektivitas Ekstrak Binahong (*Andredera cordifolia* Steenis) Terhadap *Salmonella typhi* Secara In Vitro. *Jurnal Penelitian dan Kajian Ilmiah Kesehatan Politeknik Medica Farma Husada Mataram*, 8(2), 127–136.
- Zahki, M. (2023). Efektifitas Antibakteri Senyawa Metabolit Sekunder Pada Beberapa Tanaman Obat Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Usadha*, 2(2), 1–6.